

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia menempati peringkat kedua dunia sebagai penghasil *food waste* terbesar, dengan rata-rata 300 kg sampah makanan per orang setiap tahunnya (Hermanu, 2022). Berdasarkan data Kementerian Pertanian Republik Indonesia (2019), Indonesia berada di bawah Arab Saudi dalam kategori penghasil *food waste* terbesar. Hal ini menjadi ironi karena Indonesia telah berkomitmen untuk mengurangi permasalahan tersebut melalui Peraturan Presiden Nomor 97 Tahun 2017 tentang Kebijakan dan Strategi Nasional Pengelolaan Sampah Rumah Tangga dan Sampah Sejenis Sampah Rumah Tangga. Kebijakan tersebut menargetkan pengurangan sampah sebesar 30% dan penanganan sampah hingga 70% pada tahun 2025 (Farahdiba et al., 2023). Namun, dalam beberapa tahun terakhir, jumlah *food waste* justru meningkat, sehingga hal tersebut berpotensi menimbulkan masalah serius bagi rantai penyediaan makanan dan pelestarian lingkungan di masa depan (Chaerul dan Zatadini, 2020).

Tamara et al. (2020) mencatat bahwa jumlah makanan yang berakhir sebagai *food waste* dan tidak dimanfaatkan dengan baik sebenarnya dapat memenuhi kebutuhan pangan lebih dari 28 juta orang di Indonesia yang saat ini masih mengalami kekurangan akses terhadap pangan. Salah satu faktor utama penyebab *food waste* adalah kemasan makanan yang tidak memadai atau cacat. Oleh karena itu, solusi inovatif diperlukan untuk pengembangan kemasan cerdas yang dapat memantau keamanan dan kualitas produk pangan (Magalhaes et al., 2020). Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengatasi masalah *food waste* melalui teknologi pelapisan makanan yang dapat dimakan (*edible coating*). Vieira et al. (2021) melaporkan bahwa pelapisan buah dengan kitosan, alginat, dan minyak zaitun dapat memperpanjang umur simpan buah secara signifikan, dari 14 hari menjadi 19 hari pada suhu 4°C, serta hingga 2 hari pada suhu kamar. Penelitian lainnya oleh Algarni et al. (2022) menunjukkan bahwa nanopartikel kitosan sebagai pelapis makanan dapat meningkatkan kualitas aprikot dan memperpanjang umur simpannya hingga 30 hari dalam lemari es dan 9 hari pada suhu kamar. Rashid et al. (2020) juga menemukan bahwa nanoemulsi berbasis polisakarida fenugreek dan rami efektif mempertahankan kualitas buah apel selama penyimpanan, sehingga memperpanjang masa simpannya. Selain itu, Zubaidin dan Nairfana (2023) menemukan bahwa pengaplikasian *edible coating* karagenan dari rumput laut *Kappachus alvarezzi* pada buah sawo menunjukkan penurunan pada total padatan terlarut yang menandakan kemampuan untuk mempertahankan kualitas buah sawo selama masa simpan.

Metode pelapisan yang dikenal sebagai *edible coating* menjadi alternatif untuk melindungi produk makanan dari kerusakan mekanis sekaligus aman untuk dikonsumsi. *Edible coating* adalah lapisan tipis dengan ketebalan kurang dari 0,3 mm

yang diaplikasikan pada permukaan makanan untuk menciptakan penghalang antara makanan dan lingkungan. Metode ini dapat menjadi solusi inovatif untuk memperpanjang umur simpan makanan sekaligus menggantikan penggunaan kemasan plastik yang sulit terurai. Kelebihan *edible coating*, yaitu dibuat dari bahan alami sehingga dapat dikonsumsi, tidak beracun, dan lebih hemat biaya jika dibandingkan dengan pelapis sintesis lainnya. *Edible coating* tidak hanya melindungi produk makanan dari kerusakan mekanis tetapi juga berfungsi sebagai penghalang untuk mengontrol transfer uap air, oksigen, dan lipid, serta dapat diperkaya dengan bahan aktif seperti antioksidan dan antimikroba. *Edible coating* biasanya terdiri dari biopolimer, bahan tambahan, dan pelarut. Biopolimer seperti polisakarida, protein, dan lipid digunakan karena kemampuannya dalam mengontrol kelembaban, membatasi transfer gas, dan memberikan sifat mekanis yang baik.

Selain itu, *edible coating* dapat menggantikan peran plastik kemasan karena sifatnya yang *biodegradable*, sehingga lebih ramah lingkungan (Rosida et al., 2018). Komponen penyusun *edible coating* dapat dibagi menjadi tiga kategori, yaitu hidrokoloid (protein dan polisakarida), lipid (lilin, parafin, acetoglyceride, resin), dan komposit. Polisakarida merupakan bahan yang banyak digunakan karena dapat memperlambat laju kelembaban dan mempertahankan kualitas produk makanan (Rosida et al., 2018). Panahirad et al. (2020) menganalisis bahwa *edible coating* berbasis polisakarida mampu meningkatkan kualitas pascapanen sekaligus memperkuat peran antioksidan. Salah satu jenis polisakarida yang sangat potensial adalah yang berasal dari rumput laut, karena kandungan karbohidratnya yang tinggi, aktivitas antioksidan, dan sifat mekaniknya yang baik (Ganesan et al., 2018).

Rumput laut, seperti *Ulva lactuca*, merupakan salah satu sumber polisakarida potensial yang dapat diaplikasikan dalam *edible coating*. *Ulva lactuca*, jenis alga hijau yang dapat dikonsumsi, memiliki kandungan antioksidan, antibakteri, dan antijamur yang signifikan (Valentine et al., 2020). Alga ini juga kaya akan polisakarida struktural bernama ulvan, yang menyusun hingga 30% dari berat keringnya. Ulvan mengandung senyawa seperti asam sulfonat, *L-rhamnose sulfate*, xilosa, dan glukosa yang bermanfaat sebagai antivirus, antitumor, antikoagulan, antilipid, dan antidepresan (Dominguez dan Loret, 2019). Ulvan diperoleh dengan melakukan ekstraksi dalam kondisi yang optimal untuk memperoleh hasil yang maksimal. Optimasi kondisi ekstraksi dilakukan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM). RSM adalah teknik matematika dan statistik yang dirancang untuk mengevaluasi hubungan antara beberapa variabel independen yang memengaruhi hasil proses. Dalam konteks ini, variabel-variabel independen mencakup suhu, waktu, dan pH ekstraksi. Metode ini tidak hanya memberikan pendekatan yang efisien untuk menemukan kondisi optimal, tetapi juga menghasilkan model matematis yang dapat menggambarkan interaksi kimia dan biologis dalam sistem ekstraksi (Chen et al., 2020).

Metode RSM menghasilkan model kuadrat yang dapat memvisualisasikan permukaan respons secara akurat. Model ini menunjukkan bahwa variabel-variabel ekstraksi saling memengaruhi dan menghasilkan respons terbaik pada kondisi tertentu. Misalnya, suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan degradasi termal

ulvan, sementara waktu ekstraksi yang terlalu singkat tidak cukup untuk memutuskan ikatan polisakarida dari matriks dinding sel alga. Interaksi antara variabel-variabel tersebut dirumuskan dalam persamaan kuadrat yang memungkinkan interpretasi hasil secara kuantitatif (Ahmed et al., 2019). Keunggulan metode RSM adalah kemampuannya untuk mengurangi jumlah eksperimen yang diperlukan sambil tetap menghasilkan informasi yang akurat mengenai pengaruh variabel. Pendekatan ini juga mempercepat proses optimasi dan memungkinkan penghematan waktu serta sumber daya, yang sangat penting dalam penelitian berbasis laboratorium (Nurmiah et al., 2013).

Sebagai pelengkap dalam formulasi *edible coating*, bahan tambahan seperti ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dapat digunakan untuk meningkatkan aktivitas antioksidan. Secara tradisional, bunga telang digunakan untuk menjaga kesehatan jantung, memperbaiki pencernaan, mencegah diabetes, memperbaiki penglihatan, dan mengurangi kerontokan rambut (Inung et al., 2021). Selain itu, bunga ini dapat meningkatkan sirkulasi darah di kepala, menjaga kesehatan kulit kepala, mengurangi munculnya uban, meredakan asma, serta mencegah kanker dan peradangan (Gunarti et al., 2023). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Tjahjadi et al. (2023) menemukan bahwa penambahan ekstrak bunga telang dapat meningkatkan total antosianin, total fenol, dan aktivitas antioksidan pada *smart edible packaging* secara signifikan.

Penelitian oleh Purwanto et al. (2020) mengungkapkan bahwa bunga telang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi di antara tanaman sejenis. Penambahan ekstrak bunga telang yang kaya akan senyawa flavonoid dan tanin dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan mendukung perlindungan tambahan terhadap produk pangan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas untuk menghentikan reaksi rantai oksidasi. Secara biologis, antioksidan mampu mengatasi dampak negatif radikal bebas yang dapat merusak elemen vital sel tubuh, seperti DNA, protein, dan lipid pada membran sel. Radikal bebas adalah molekul tidak stabil yang memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga cenderung mencuri elektron dari molekul di sekitarnya, menyebabkan kerusakan oksidatif pada tubuh (Erlidawati dan Safrida, 2018). Dalam *edible coating*, keberadaan senyawa antioksidan dapat memperpanjang umur simpan produk pangan dengan melindungi makanan dari proses oksidasi yang menyebabkan kerusakan kualitas. Mekanisme kerja antioksidan dibagi menjadi dua jenis utama: (1) *electron transfer* (ET), di mana antioksidan bekerja dengan mendonorkan elektron, menyebabkan perubahan warna yang dapat diukur secara spektrofotometrik, dan (2) *hydrogen atom transfer* (HAT), di mana antioksidan menyumbangkan atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas. Kedua mekanisme ini mendukung kemampuan antioksidan dalam *edible coating* untuk melindungi makanan dari kerusakan oksidatif (Andriani dan Murtisiwi, 2020). Oleh karena itu, kombinasi *Ulva lactuca* dan bunga telang memiliki potensi besar dalam aplikasi *edible coating* sebagai solusi inovatif untuk meningkatkan umur simpan produk makanan sekaligus ramah lingkungan. Berdasarkan latar belakang

tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui biosintesis *edible coating* berbahan dasar *Ulva lactuca* dan bunga telang dalam perannya sebagai antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. bagaimana kondisi optimal untuk mengekstraksi ulvan dari *Ulva lactuca* dengan variasi parameter, yaitu suhu, waktu, dan pH?
2. bagaimana aktivitas antioksidan *edible coating* berbasis *Ulva lactuca* dan bunga telang (*Clitoria ternatea*)?
3. bagaimana karakteristik fisikokimia pada *edible coating* berbasis *Ulva lactuca* dan bunga telang (*Clitoria ternatea*)?
4. apakah penerapan *edible coating* berbasis *Ulva lactuca* dan bunga telang (*Clitoria ternatea*) efektif dalam memperpanjang umur simpan buah?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. mengidentifikasi kondisi optimal untuk mengekstraksi ulvan dari *Ulva lactuca* dengan variasi parameter, yaitu suhu, waktu, dan pH,
2. menganalisis aktivitas antioksidan *edible coating* berbasis *Ulva lactuca* dan bunga telang (*Clitoria ternatea*),
3. mengidentifikasi karakteristik fisikokimia pada *edible coating* berbasis *Ulva lactuca* dan bunga telang (*Clitoria ternatea*),
4. menganalisis efektivitas penerapan *edible coating* berbasis *Ulva lactuca* dan bunga telang (*Clitoria ternatea*) dalam memperpanjang umur simpan buah.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat:

1. menyediakan informasi ilmiah mengenai potensi *Ulva lactuca* dan bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai bahan dasar *edible coating* yang efektif dalam pengemasan makanan,
2. mendukung upaya perpanjangan masa simpan makanan secara ramah lingkungan untuk diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari,
3. menjadi data penunjang bagi penelitian lanjutan dalam pengembangan *edible packaging* berbasis bahan alami, khususnya di Indonesia.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga hijau *Ulva lactuca*, bunga telang, etanol 96% (C₂H₅OH, Merck), etanol 70% (C₂H₅OH, Merck), gliserol (C₃H₈O₃, Merck), CMC (*Carboxymethyl Cellulose*, Sigma-Aldrich), ABTS (*2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6- asam sulfonat*, Sigma-Aldrich), kalium persulfat (K₂S₂O₈, Merck), DNS (*asam 3,5- dinitrosalisilat*, Merck), glukosa (C₆H₁₂O₆, Merck), kalium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄, Merck), kalium hidrogen fosfat (K₂HPO₄, Merck), natrium hidroksida (NaOH, Merck), kalium natrium tartrat (KNaC₄H₄O₆·4H₂O, Merck), asam klorida (HCl, Merck), serbuk magnesium (Mg, Merck), larutan besi III klorida (FeCl₃, Merck), reagen Dragendorff (Merck), kloroform (CHCl₃, Merck), asam asetat anhidrat (CH₃CO)₂O, Merck), akuades, kertas saring (Whatman), dan aluminium foil.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH meter (Lutron 208), mikropipet (100-1000 µL, Eppendorf), mikropipet (20-200 µL, Eppendorf), *hot plate* stirrer (Joanlab MHS₄Pro), tabung sentrifugasi (Greiner Bio-One), desikator (Duran), labu semprot, plastik cetik, neraca analitik (Ohaus), cawan petridis, cawan porselein, oven (Gen Lab Ltd), inkubator (Mettler), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1780), sentrifugator (Eppendorf), vortex (Barnstead), *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDS, Jeol), *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR, Shimadzu 820 IPC), X-Ray Diffraction (XRD, Rigaku) dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai Desember 2023-November 2024. Pengambilan sampel rumput laut *Ulva lactuca* dilakukan di Desa Punaga, Kecamatan Laikang, Kabupaten Takalar. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin dan di Laboratorium Terpadu Bioteknologi, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin. Pengujian SEM dilakukan di Laboratorium Forensik Makassar, pengujian XRD dilakukan di Laboratorium Mikrostruktur, Universitas Negeri Makassar, serta pengujian kuat Tarik dan elongasi dilakukan di Balai Besar Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Hasil Perkebunan, Mineral Logam, dan Maritim (BBSPJIHPMM) Makassar.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi Sampel *Ulva lactuca*

Sebanyak 100 g *Ulva lactuca* segar dicuci bersih menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan kontaminan permukaan seperti pasir atau garam (Chen et al., 2020). Setelah dicuci, sampel diangin-anginkan pada suhu ruang selama 6 jam untuk mengurangi kadar air awal. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 72 jam hingga kadar air mencapai tingkat minimal, yang penting untuk mencegah pertumbuhan mikroba (Azizi et al., 2017). Setelah pengeringan, *Ulva lactuca* kering direndam dalam etanol 96% selama 24 jam. Perendaman ini bertujuan untuk menghilangkan senyawa-senyawa non-polisakarida, seperti lipid dan pigmen klorofil, yang larut dalam pelarut organik (Ahmed & Ahmed, 2014; Ganesan et al., 2018). Sampel yang telah direndam kemudian disaring menggunakan kain kasa atau saringan halus untuk memisahkan larutan filtrat dan residu. Residu yang diperoleh selanjutnya dikeringkan kembali menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam untuk memastikan tidak ada pelarut sisa yang tersisa (Panahirad et al., 2020). Setelah benar-benar kering, residu dihancurkan menggunakan blender atau alat penghancur hingga berbentuk serbuk halus. Serbuk yang dihasilkan kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh untuk memperoleh ukuran partikel yang seragam (Chen et al., 2020). Serbuk *Ulva lactuca* yang telah siap kemudian disimpan dalam wadah kedap udara untuk menjaga stabilitasnya sebelum digunakan dalam proses selanjutnya.

2.4.2 Optimasi Produksi Ulvan dengan Metode Response Surface Methodology (RSM)

Metode *Response Surface Methodology* (RSM) digunakan untuk menentukan kondisi optimal dalam proses ekstraksi ulvan dari *Ulva lactuca*. Analisis dilakukan dengan bantuan aplikasi MiniTab yang dirancang menggunakan model Box-Behnken. Variabel bebas yang digunakan meliputi suhu ekstraksi (50–90°C), waktu ekstraksi (20–40 menit), dan pH larutan (7–9) (Chen et al., 2020). Proses ekstraksi menghasilkan dua parameter respon utama, yaitu berat rendemen, yang diperoleh dari endapan hasil sentrifugasi, dan total kadar gula, yang diperoleh dari supernatan hasil sentrifugasi. Data hasil ekstraksi kemudian dianalisis menggunakan MiniTab untuk menentukan kondisi optimal variabel bebas guna menyintesis *edible coating*. RSM memanfaatkan regresi berganda untuk memodelkan hubungan antara variabel bebas dan variabel respon, yang bertujuan mengidentifikasi kondisi optimal ekstraksi. Metode ini telah banyak digunakan dalam penelitian biomaterial, khususnya untuk pengembangan proses berbasis rumput laut seperti *Ulva lactuca* (Ahmed et al., 2019; Chen et al., 2020; Ganesan et al., 2018). Hasil analisis ini diharapkan memberikan informasi akurat untuk pengembangan *edible coating* yang efektif dan ramah lingkungan.

2.4.3 Ekstraksi Polisakarida Ulvan

Sebanyak 2 g serbuk *Ulva lactuca* dimasukkan ke dalam gelas kimia dan diekstraksi menggunakan akuades dengan perbandingan sampel terhadap pelarut 1:20 (b/v). Campuran ini dipanaskan pada suhu dan waktu yang telah ditentukan berdasarkan metode *Response Surface Methodology* (RSM). Setelah proses pemanasan selesai, campuran disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan dua bagian utama: supernatan dan endapan (Peasura et al., 2015; Chen et al., 2020).

Supernatan yang diperoleh kemudian diendapkan menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:3 (sampel:etanol) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 4°C untuk memfasilitasi presipitasi polisakarida. Campuran ini kembali disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C untuk menghasilkan dua fraksi, yaitu supernatan dan endapan (Ahmed et al., 2019). Endapan yang dihasilkan dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C selama 48 jam hingga kering sempurna. Setelah proses pengeringan, endapan didinginkan dalam desikator untuk menghindari adsorpsi kelembaban dari udara. Hasil akhir berupa ulvan kering disimpan dalam wadah kedap udara untuk mencegah degradasi selama penyimpanan (Ganesan et al., 2018; Azizi et al., 2017). Setelah ulvan yang diperoleh melalui proses ekstraksi benar-benar dingin, sampel digerus hingga halus dan ditimbang untuk menentukan berat kering ulvan. Rendemen ulvan dihitung dengan membandingkan berat kering ulvan yang diperoleh dengan berat awal rumput laut *Ulva lactuca* yang digunakan dalam proses ekstraksi. Perhitungan rendemen dilakukan menggunakan persamaan berikut (Ramadhan et al., 2022):

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ulvan kering}}{\text{berat rumput laut } Ulva \text{ lactuca } \text{ kering}} \times 100\%. \quad (1)$$

2.4.4 Karakterisasi Struktur Ulvan dengan Fourier Transform Infrared (FTIR)

Sebanyak 1 mg bubuk halus ulvan dicampur dengan 10 mg kalium bromida (KBr) dalam kondisi kering. Campuran ini kemudian digerus hingga homogen menggunakan mortar dan alu untuk memastikan distribusi partikel yang merata. Campuran tersebut dicetak menjadi pelat tipis dengan menggunakan alat penekan hidraulik pada tekanan tinggi (Sari et al., 2018; Ahmed et al., 2019). Pelat KBr-ulvan yang telah terbentuk dimasukkan ke dalam perangkat Fourier Transform Infrared (FTIR) untuk dilakukan analisis spektrum inframerah. Data spektrum FTIR yang dihasilkan mencakup pita serapan khas, yang menunjukkan keberadaan gugus fungsi utama pada struktur ulvan, seperti gugus hidroksil (-OH), gugus sulfat (-SO₃), dan ikatan glikosidik (C-O-C). Spektrum yang diperoleh dibandingkan dengan tabel referensi IR atau pustaka standar untuk memastikan kesesuaian gugus fungsi yang teridentifikasi (Chen et al., 2020). Analisis FTIR bertujuan untuk mengkarakterisasi struktur kimia ulvan, memberikan informasi tentang komposisi gugus fungsi, dan mengonfirmasi kehadiran polisakarida struktural dalam sampel. Prosedur ini

memastikan bahwa ulvan yang diisolasi memiliki kualitas yang sesuai untuk aplikasi lanjutan, seperti sintesis *edible coating* (Azizi et al., 2017; Ganesan et al., 2018).

2.4.5 Preparasi Bunga Telang

Mahkota dan mangkuk bunga telang (*Clitoria ternatea*) yang berada di bagian bawah dihilangkan secara manual untuk menghindari kontaminasi dari bagian non-essensial bunga. Setelah itu, bunga dipotong menjadi bagian-bagian kecil dengan ukuran seragam menggunakan pisau steril. Proses ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan bunga sehingga mempercepat proses ekstraksi (Wulandari et al., 2023; Singh et al., 2021).

2.4.6 Ekstraksi Bunga Telang

Sebanyak 30 g bunga telang yang telah dipotong kecil-kecil ditimbang dan dimasukkan ke dalam botol kaca gelap. Larutan etanol 70% sebanyak 150 mL ditambahkan sebagai pelarut untuk mengekstraksi senyawa bioaktif, seperti antosianin dan flavonoid. Botol kaca gelap digunakan untuk melindungi senyawa aktif dari degradasi akibat paparan sinar matahari langsung. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam sambil diaduk sesekali untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi (Wulandari et al., 2023; Wang et al., 2020). Setelah proses inkubasi, campuran disaring menggunakan kain muslin atau kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu bunga. Filtrat yang dihasilkan merupakan ekstrak bunga telang yang kaya akan senyawa aktif. Residu yang tersisa dapat dibuang atau digunakan untuk keperluan lain sesuai kebutuhan penelitian (Singh et al., 2021).

2.4.7 Pengujian Fitokimia Ekstrak Bunga Telang

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) melalui berbagai uji kualitatif berikut.

Uji flavonoid. Sebanyak 2 mL larutan ekstrak bunga telang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 mL akuades. Campuran dipanaskan selama 5 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan 5 tetes HCl pekat dan sedikit serbuk logam magnesium (Mg). Kehadiran flavonoid ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi kuning, merah, atau jingga (Wijaya et al., 2014; Singh et al., 2021).

Uji tanin. Sebanyak 10 mL larutan ekstrak bunga telang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 1%. Kehadiran tanin ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi biru tua, hitam kehijauan, atau violet (Wijaya et al., 2014; Wang et al., 2020).

Uji saponin. Sebanyak 2 mL larutan ekstrak bunga telang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan air panas dengan perbandingan 1:1. Campuran dikocok selama 1–2 menit, kemudian ditambahkan 2 tetes HCl 1N. Kehadiran saponin ditandai dengan terbentuknya busa permanen yang bertahan selama 7 menit (Wijaya et al., 2014; Azizi et al., 2017).

Uji alkaloid. Sebanyak 2 mL larutan ekstrak bunga telang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 tetes HCl 1%. Campuran diaduk hingga larut, kemudian ditambahkan 1 mL reagen Dragendorff. Kehadiran alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga (Abdillah et al., 2022; Wulandari et al., 2023).

Uji steroid dan triterpenoid. Sebanyak 2 mL larutan ekstrak bunga telang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya, ditambahkan H₂SO₄ pekat secara perlahan melalui dinding tabung reaksi. Kehadiran steroid ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi hijau kebiruan, sedangkan kehadiran triterpenoid ditandai dengan warna kecokelatan atau violet pada batas larutan (Novianti et al., 2015; Singh et al., 2021).

2.4.8 Sintesis edible coating

Sebanyak 1 g serbuk polisakarida ulvan ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL akuades dalam 2 gelas kimia berbeda. Larutan dipanaskan hingga suhu mencapai 60°C sambil diaduk perlahan untuk memastikan ulvan larut sempurna. Setelah larut, *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) 1 g dan gliserol sebanyak 1 mL ditambahkan secara perlahan. Setelah itu, ekstrak bunga telang ditambahkan 1 mL pada gelas pertama dan 2 mL pada gelas kedua lalu campuran diaduk hingga suhu 85°C selama 30 menit dengan kecepatan 1000 rpm (Yudiyanti dan Matsjeh, 2020; Chen et al., 2020). Kedua campuran yang dihasilkan dituang sebanyak 10 mL ke cawan petri, dioven hingga kering, dan menghasilkan *edible coating* kering yang siap untuk dianalisis lebih lanjut (Ahmed et al., 2019; Wang et al., 2020).

2.4.9 Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan larutan stok sampel *edible coating*. Larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan menimbang 0,05 g *edible coating* kering, kemudian melarutkannya dalam akuades. Volume larutan dicukupkan hingga 50 mL dalam labu ukur, sehingga menghasilkan larutan stok yang homogen (Ezra et al., 2023).

Pembuatan larutan stok ABTS. Sebanyak 7,1 mg bubuk ABTS dan 3,5 mg kalium persulfat masing-masing dilarutkan secara terpisah menggunakan 5 mL etanol. Kedua larutan kemudian dicampur dalam labu ukur yang telah ditutup rapat untuk menghindari intervensi cahaya. Campuran diinkubasi selama 12–16 jam di ruang gelap, lalu diencerkan dengan etanol hingga mencapai volume 25 mL (Ezra et al., 2023).

Pembuatan larutan stok vitamin C. Sebanyak 1000 mg vitamin C dilarutkan dalam 100 mL metanol untuk membuat larutan stok. Larutan ini kemudian diencerkan lebih lanjut hingga menghasilkan rentang konsentrasi 0,5; 1; 2; 4; dan 8 ppm (Ezra et al., 2023).

2.4.9.1 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

Penentuan panjang gelombang maksimum ABTS. Sebanyak 1 mL larutan ABTS dipipet, kemudian ditambahkan 1 mL akuades. Campuran dihomogenkan dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400–800 nm. Panjang gelombang maksimum ditentukan dari hasil pengukuran (Saputri et al., 2020).

Pengukuran serapan larutan blanko ABTS. Sebanyak 1 mL larutan ABTS dipipet, lalu ditambahkan 1 mL akuades. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 20 menit. Setelah itu, serapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 732 nm (Saputri et al., 2020).

Pengukuran aktivitas antioksidan sampel. Larutan stok sampel dengan konsentrasi 1000 ppm diencerkan untuk menghasilkan konsentrasi 50, 100, 200, 400, dan 800 ppm. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 1 mL, kemudian dicampurkan dengan 1 mL larutan ABTS. Campuran diinkubasi selama 20 menit, dihomogenkan menggunakan vortex, dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Sami et al., 2020).

Pengukuran aktivitas antioksidan ABTS dengan vitamin C murni. Larutan vitamin C pada setiap konsentrasi dipipet sebanyak 1 mL, lalu dicampurkan dengan 1 mL larutan ABTS. Campuran diinkubasi selama 20 menit, kemudian serapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Saputri et al., 2020). Persentase perhitungan ABTS menggunakan persamaan:

$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}) \times 100\%}{\text{Abs blanko}} \quad (3)$$

Perhitungan Nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ umumnya digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu sampel karena nilai ini menggambarkan besarnya konsentrasi suatu senyawa yang dapat menghambat radikal bebas sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh melalui persamaan regresi linear $y=ax + b$, dengan variabel y bernilai 50 dan nilai x adalah IC₅₀. Semakin rendah nilai IC₅₀ menunjukkan aktivitas antioksidan semakin tinggi (Saputri dkk., 2020).

2.4.10 Pengujian Kelarutan *Edible Coating*

Sampel *edible coating* kering dipotong dengan ukuran 1 × 1 cm dan diletakkan dalam cawan porselin yang telah dikeringkan dan ditimbang sebelumnya. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 100°C selama 3 jam. Setelah pengeringan, sampel didinginkan selama 15–30 menit dalam desikator dan ditimbang untuk mendapatkan berat awal kering (w_0). Proses pengeringan dilanjutkan selama 1 jam tambahan, didinginkan kembali selama 15–30 menit, dan ditimbang untuk memastikan konsistensi berat awal kering (w_0) (Harumarani et al., 2016; Ahmed et al., 2020). Sampel yang telah ditimbang direndam dalam 25 mL akuades selama 24 jam pada suhu ruang untuk menguji kelarutannya. Setelah perendaman, residu yang tidak larut diangkat, kemudian dikeringkan kembali dalam oven pada suhu 100°C selama 2 jam. Setelah pengeringan, residu didinginkan dalam desikator selama 10 menit untuk menghindari penyerapan uap air, lalu ditimbang untuk mendapatkan berat akhir (w_1) (Chen et al., 2022). Persentase kelarutan dapat diperoleh dengan persamaan (Harumarani dkk., 2016):

$$\text{Kelarutan} = \frac{(w_0 - w_1)}{w_0} \times 100\% \quad (4)$$

Pengujian ini bertujuan untuk menentukan kelarutan *edible coating* dalam air, yang merupakan parameter penting dalam evaluasi sifat fisikokimia produk untuk aplikasi pangan (Harumarani et al., 2016; Wang et al., 2021).

2.4.11 Pengujian Kuat Tarik *Edible coating*

Sampel *edible coating* kering dipotong dengan ukuran 5 × 2 cm. Ketebalan sampel diukur menggunakan mikrometer digital untuk memastikan ketebalan seragam. Setelah pengukuran ketebalan, sampel dipasang di antara grip penguji dengan jarak awal 50 mm. Pengujian kuat tarik dilakukan menggunakan alat *Texture Analyzer* dengan kecepatan penarikan 50 mm/menit hingga sampel mengalami kerusakan atau robek (Harumarani et al., 2016; Chen et al., 2021). Kuat tarik dihitung dengan membagi gaya maksimal (F , dalam N) yang diberikan pada sampel dengan luas permukaan film (A , dalam m²). Persamaan pengujian kuat tarik sebagai berikut:

$$\text{Kuat tarik (kgf/cm}^2\text{)} = \frac{F}{N} \quad (5)$$

Pengujian ini digunakan untuk mengevaluasi kekuatan mekanis *edible coating*, yang merupakan parameter penting dalam memastikan aplikabilitasnya sebagai bahan pengemas. Pengujian ini memberikan informasi tentang kemampuan film untuk menahan gaya eksternal tanpa robek atau pecah (Chen et al., 2021; Wang et al., 2022).

2.4.12 Pengujian Elongasi *Edible coating*

Sampel *edible coating* kering dipotong dengan ukuran 5 × 2 cm, kemudian dikondisikan di laboratorium dengan kelembaban relatif (RH) sebesar 50% selama 48 jam untuk menstabilkan sifat mekanisnya. Setelah dikondisikan, sampel dipasang pada alat Instron dengan pengaturan berikut: jarak awal pegangan (initial grip separation) 50 mm, kecepatan penarikan (*crosshead speed*) 50 mm/menit, dan beban maksimum (*loadcell*) 50 kg (Harumarani et al., 2016; Wang et al., 2021). Selama pengujian, panjang awal sampel (l_0) diukur sebelum dilakukan penarikan. Penarikan dilakukan hingga sampel putus atau robek, dan panjang akhir sampel (l_1) setelah penarikan diukur. Persentase elongasi dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Elongasi} = \frac{(l_0 - l_1)}{l_0} \quad (6)$$

Pengujian ini bertujuan untuk mengevaluasi sifat elastisitas *edible coating*, yaitu kemampuan film untuk memanjang sebelum mengalami kerusakan. Parameter elongasi menjadi indikator penting dalam menentukan fleksibilitas material, terutama untuk aplikasi sebagai pengemas pangan (Chen et al., 2021; Ahmed et al., 2022).

2.4.13 Karakterisasi *Edible coating* dengan Fourier Transform Infrared (FTIR)

Sebanyak 1 mg *edible coating* kering dicampur dengan 10 mg KBr dalam kondisi kering. Campuran digerus hingga homogen menggunakan mortar dan cetakan pelat tipis dibuat dengan tekanan tinggi. Pelat KBr-*edible coating* yang telah terbentuk dimasukkan ke perangkat FTIR untuk analisis spektrum inframerah. Spektrum FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi utama pada material, seperti gugus hidroksil (-OH), karbonil (-C=O), dan gugus ester (-COOR), yang menunjukkan keberadaan polisakarida dan interaksi kimia lainnya (Chen et al., 2021; Ahmed et al., 2022).

2.4.14 Karakterisasi *Edible coating* dengan X-Ray Diffraction (XRD)

Sampel *edible coating* kering digerus hingga berbentuk serbuk halus dan ditempatkan pada holder XRD. Analisis dilakukan menggunakan alat XRD pada rentang sudut 2θ antara 5–80°. Pola difraksi yang diperoleh digunakan untuk menentukan struktur kristalin atau amorf pada *edible coating*. Informasi ini penting untuk memahami pengaruh komposisi bahan terhadap sifat fisik film (Ahmed et al., 2022; Wang et al., 2020).

2.4.15 Karakterisasi *Edible coating* dengan Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive X-Ray (SEM-EDS)

Sampel *edible coating* dipotong menjadi ukuran kecil dan dilapisi dengan lapisan konduktif tipis (seperti emas atau karbon) untuk meningkatkan konduktivitas listrik. Sampel dianalisis menggunakan SEM untuk mengamati morfologi permukaan, seperti keberadaan pori-pori, struktur, dan kekompakan. Analisis EDS dilakukan bersamaan untuk mengidentifikasi elemen-elemen penyusun pada film *edible coating*. Kombinasi SEM-EDS memberikan informasi mendetail tentang struktur mikro dan komposisi material (Singh et al., 2021; Chen et al., 2022).

2.4.16 Pengaplikasian *Edible coating* pada Buah Tomat

Buah tomat (*Solanum lycopersicum*) yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan kontaminan. Setelah dicuci, tomat ditiriskan hingga kering. Setiap buah dicelupkan ke dalam larutan *edible coating* selama 3 menit untuk memastikan lapisan pelindung merata di seluruh permukaan (Ahmed et al., 2019; Kumar et al., 2021). Setelah proses pencelupan, tomat dibiarkan mengering dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang untuk memastikan lapisan *edible coating* melekat sempurna tanpa kelembaban berlebih.

Buah tomat yang telah dilapisi disimpan pada suhu ruang tanpa pengaruh langsung dari pencahayaan untuk menghindari degradasi *edible coating* yang sensitif terhadap cahaya (Chen et al., 2020). Selama penyimpanan, buah tomat diamati secara berkala untuk menilai parameter kerusakan. Parameter kerusakan meliputi tanda-tanda kekisutan kulit (penurunan kelembaban) dan pertumbuhan kapang pada permukaan buah. Jika salah satu parameter kerusakan terdeteksi, buah tersebut dinyatakan rusak (Widaningrum et al., 2015; Azizi et al., 2017).